



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES
CURSO DE FISIOTERAPIA

EFEITOS MORFOLÓGICOS DA ELETROESTIMULAÇÃO
NEUROMUSCULAR NO ESFÍNCTER ANAL EXTERNO: UM ESTUDO
PROSPECTIVO COM RATAS WISTARS.

MARÍLIA SILVA DO NASCIMENTO SOARES
URSULA DE OLIVEIRA LIMONGI

BRASÍLIA - DF

2015

MARÍLIA SILVA DO NASCIMENTO SOARES

URSULA DE OLIVEIRA LIMONGI

**EFEITOS MORFOLÓGICOS DA ELETROESTIMULAÇÃO
NEUROMUSCULAR NO ESFÍNCTER ANAL EXTERNO: UM ESTUDO
PROSPECTIVO COM RATAS WISTARS.**

Artigo científico apresentado à disciplina
Trabalho de Conclusão de Curso, como requisito
parcial para a conclusão do Curso de Fisioterapia
no Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Letícia Martins Paiva

Brasília

2015

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
Curso de Fisioterapia

**EFEITOS MORFOLÓGICOS DA ELETROESTIMULAÇÃO
NEUROMUSCULAR NO ESFÍNCTER ANAL EXTERNO: UM
ESTUDO PROSPECTIVO COM RATAS WISTARS.**

**MARÍLIA SILVA DO NASCIMENTO SOARES
URSULA DE OLIVEIRA LIMONGI**

Prof.^a Dr.^a Letícia Martins Paiva

(ORIENTADORA)

Prof. M.^e Hugo Alves de Sousa

(AVALIADOR 1)

Prof.^a M.^a Monique Azevedo

(AVALIADOR 2)

APROVADA EM: ____/____/____

Dedicamos este artigo científico a todos nossos
familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos vão a todos aqueles que de alguma forma contribuíram de maneira direta ou indireta com elaboração desse trabalho.

Agradecemos principalmente a Deus, por permitir a conclusão de mais essa etapa e a nossos familiares, pelo apoio e especialmente aos nossos queridos e eternizados professores Hugo Alves de Sousa e Letícia Martins Paiva, pelos ensinamentos, direcionamentos, orientações, paciência, momentos de descontração e seriedade e por transmitir acima de tudo o amor e a paixão pelo ensino e pela profissão.

“Não exija dos outros o que eles não podem lhe dar, mas cobre de cada um a sua responsabilidade [...].

Não fique ensinando sempre, você pode aprender muito mais. Não desanime perante o fracasso, supere-se o transformando em aprendizado.

Não se aproveite de quem se esforça tanto, ele pode estar fazendo o que você deixou de fazer [...].

O amor pode absorver muitos sofrimentos, menos a falta de respeito a si mesmo! Se você quer o melhor das pessoas, dê o máximo de si, já que a vida lhe deu tanto. Enfim, agradeça sempre, pois a gratidão abre as portas do coração.”

(Içami Tiba)

RESUMO

Objetivo: Analisar o efeito da eletroestimulação neuromuscular (EENM) no esfíncter anal externo (EAE) de ratas nulíparas Wistars e apresentar por morfometria as alterações no diâmetro das fibras musculares após a EENM. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental prospectivo. Foram utilizadas 12 ratas fêmeas nulíparas da linhagem Wistar com 1 ano (12 meses) de idade. As ratas foram distribuídas em dois grupos: Grupo Controle (n=6) e um Grupo de Eletroestimulação (n=6). Os parâmetros da eletroestimulação obedeceram a seguinte sistematização: 50 Hz de frequência, com 700- μ s de largura de pulso e 2 mA de intensidade de corrente. Após a eutanásia dos animais, foram removidos os esfíncteres anais externos para exame histopatológico por microscopia de luz. Os músculos foram fixados em xilol a 10% e, depois, emblocados em parafina para secção em micrótomo e corados com Tricrômio de Gomori. **Resultados:** Observou-se pela análise do teste t pareado que o tratamento com eletroestimulação aumentou o diâmetro médio das fibras musculares do esfíncter anal externo do Grupo de Eletroestimulação ($29,0 \pm 1,2$) em relação ao Grupo Controle ($24,7 \pm 0,8$), sendo estatisticamente significativo ($p=0,0002$). **Conclusão:** A eletroestimulação foi capaz de induzir o aumento do diâmetro médio das fibras musculares do esfíncter anal externo de ratas nulíparas eletroestimuladas.

Descritores: Esfíncter Anal; Eletroestimulação; Hipertrofia; Histologia; Ratas.

ABSTRACT

Purpose: Analyze the effects of neuromuscular electrical stimulation (NMES) in the external anal sphincter (EAS) of nulliparous Wistar rats and present morphometric changes in muscular fibers diameters after NMES. **Methods:** This study is a prospective experiment. 12 nulliparous female rats of the lineage Wistar with 1 year (12 months) old were used. The rats were divided in two groups, Control Group (n=6) and an electrically stimulated Study Group (n=6). The electrical stimulation standard obeyed the following systematization: 50 Hz of frequency, with 700- μ s of pulse width and current of 2 mA. After euthanasia of the animals, the external anal sphincters were dissected for histopathological examination by light microscopy. The muscles were fixed in xylene at 10% and then paraffin-embedded to microtome for sectioning and stained with Tricômio de Gomori. **Results:** It was observed by the t test paired analysis that the treatment with electrical stimulation increased the external anal sphincter's muscle fibers mean diameter of the electrically stimulated Study Group ($29,0 \pm 1,2$) in comparison to the Control Group ($24,7 \pm 0,8$), being statistically significant ($p=0,0002$). **Conclusion:** The electrical stimulation has been able to induce the increase in external anal sphincter's muscle fibers mean diameter of electrically stimulated nulliparous rats.

Descriptors: Anal Sphincter; Electrical stimulation; Hipertrophy; Histology; Rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MÉTODOS	11
2.1. Instrumentos e técnicas para coleta de dados:.....	12
2.1.1. Obtenção da sonda	12
2.1.2. Contenção manual	13
2.1.3. Eletroestimulação	14
2.2. Análise morfométrica:.....	16
2.2.1. Eutanásia das ratas e Obtenção do bloco pélvico	16
2.2.2. Exame histológico.....	16
2.2.3. Determinação do diâmetro das fibras musculares.....	17
2.3. Análise dos Dados	18
3. RESULTADOS	19
4. DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	25
6. REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

O assoalho pélvico é constituído por músculos e fáscias que proporcionam o suporte das estruturas pélvicas. A sua principal função é o suporte tônico destes órgãos que se dá devido ao predomínio de fibras musculares do tipo I (que são tônicas, de contrações lentas e involuntárias) e fibras musculares do tipo II (fásicas, de contrações rápidas e voluntárias).⁽¹⁾

De acordo com a perspectiva anatômica, o músculo esfíncter anal externo (EAE), que compõe o assoalho pélvico, é um prolongamento do músculo estriado elevador do ânus, onde predominam fibras musculares do tipo I e II,^(1,2) e é enervado pelo pudendo. Sua principal função é participar do controle e processo evacuatório.⁽³⁾

Dessa forma, qualquer alteração anatômica do EAE pode levar ao desenvolvimento da incontinência anal (IA) que é a incapacidade de controlar a eliminação das fezes ou gases em tempo e/ou local socialmente aceitáveis.^(2,4) Estima-se que esse sintoma afete entre 2% e 7% da população brasileira. Acredita-se que essa variação pode estar relacionada a diferenças no conceito da IA, nas diferentes populações estudadas e na existência de poucos relatos dessa condição aos profissionais de saúde, muitas vezes causada pelo constrangimento e falta de conhecimento das opções terapêuticas.^(5,6)

Os principais tratamentos para incontinência anal baseiam-se em métodos não-operatórios e intervenções cirúrgicas. Os tratamentos ditos conservadores consistem em adaptações na dieta, medicação, utilização de materiais absorventes e fisioterapia. E as cirurgias buscam corrigir a anatomia e a funcionalidade do reto, ânus, assoalho pélvico ou esfíncter anal.⁽⁷⁾

Um dos métodos hoje mais utilizados na melhora dos quadros de incontinência anal é a estimulação elétrica neuromuscular (EENM), pois essa técnica promove a hipertrofia e o fortalecimento muscular, aumento da resistência muscular e velocidade de contração voluntária do esfíncter anal externo e aprimoramento da capacidade de efetuar uma contração de forma voluntária do esfíncter anal mediante o desejo de evacuar. ^(8,9,10,11,12)

Apesar de a literatura recomendar a utilização da EENM como uma das melhores formas de garantir o funcionamento do assoalho pélvico, ⁽¹⁾ poucos são os estudos que abordam o efeito morfológico da EENM no esfíncter anal externo para tratar a incontinência anal. Acredita-se que, o estímulo elétrico seja capaz de estimular os nervos eferentes, aumentar o fluxo sanguíneo e restabelecer as conexões neuromusculares, melhorando desta forma a função das fibras musculares, hipertrofiando-as e modificando o seu padrão de ação. ^(13,14)

Diante do número reduzido de estudos histológicos sobre a ação da EENM no esfíncter anal externo, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito dessa técnica nessa musculatura em ratas nulíparas Wistars e apresentar por morfometria as alterações no diâmetro das fibras musculares após o procedimento.

2. MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental prospectivo, realizado no Laboratório de Ciências (LABOCIEN) do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB) e no Laboratório de Histologia da Área de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Brasília em 19/04/2013 (Processo Nº 004/13). As normas éticas para a pesquisa científica com animais de laboratório foram rigorosamente obedecidas, conforme determina a lei nº 6.638 de 8/05/1979 dos princípios éticos para experimentação e manutenção dos animais de laboratório, definidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os procedimentos para o uso científico de animais estabelecidos pela Lei Arouca nº 11.794/2008 também foram rigorosamente cumpridos durante a execução desse estudo.

Para a seleção da amostra, foram incluídas no estudo ratos do gênero feminino com 12 meses de idade, nulíparas e linhagem Wistar. Os critérios de exclusão basearam-se em ratas que apresentavam patologias infecciosas, sangramentos ou sofrimento como rangidos, enrijecimento da cauda ou movimentos no corpo durante a aplicação da técnica de EENM.

Após inclusão e exclusão, a amostra do estudo foi composta por 12 ratas fêmeas da linhagem Wistar, isogênicas com 1 ano de vida. Esta idade escolhida segue critérios que determinam que 12 meses de idade em ratas/ratos equivalem a 36 anos no ser humano. ⁽¹⁵⁾

As ratas foram provenientes do biotério do UniCEUB e a amostra foi selecionada por conveniência, ou seja, o número de ratas existentes na instituição.

Durante a fase experimental, as ratas foram mantidas no alojamento de animais no biotério do UniCEUB, com temperatura controlada (23°C), ciclo claro/escuro de 12 horas e alimentadas com ração balanceada e água potável *ad libitum*. O cálculo amostral do presente estudo e os critérios adotados para a experimentação e manutenção das ratas foram rigorosamente dentro das normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

De forma geral, foram utilizadas doze (n=12) ratas nulíparas, divididas em dois grupos, Grupo Controle (n=6) e um Grupo de Eletroestimulação (n=6) para determinar o efeito da EENM no diâmetro das fibras musculares do esfíncter anal externo. A alocação das ratas para o Grupo Controle e Grupo de Eletroestimulação foi por determinação aleatória de maneira estratificada.

2.1. Instrumentos e técnicas para coleta de dados:

2.1.1. Obtenção da sonda

Para viabilizar esse estudo e considerando a inexistência de sonda de eletroestimulação adaptada às dimensões do canal anal de ratas Wistars e evitar possíveis sofrimentos e desconfortos às ratas, inicialmente se procedeu a produção de sondas adaptadas ao eletroestimulador Dualpex 961 QUARK® modelo URO.

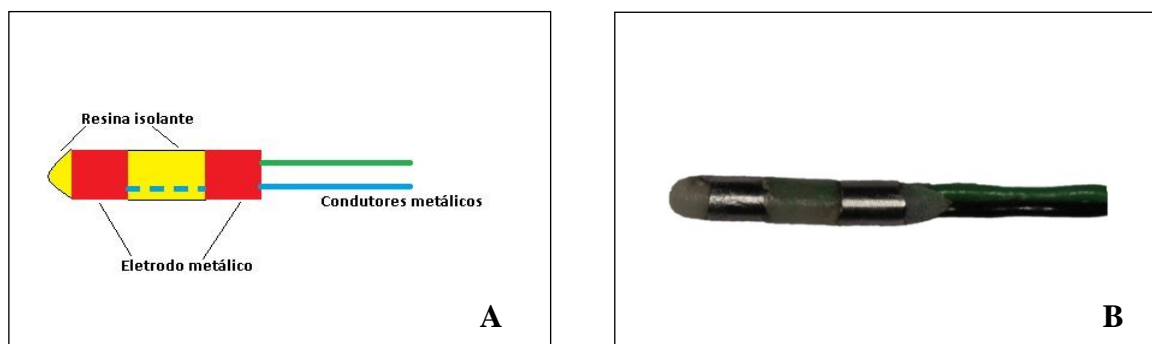
Para isso, foi elaborado, com o auxílio de um Engenheiro Biomédico, um conjunto de sondas para uso no projeto (n=4). Em cada sonda foram utilizados 2 anéis de aço inoxidável com 2.0mm de diâmetro e 3.0mm de comprimento (figura 1).

Os anéis foram conectados a fios elétricos por meio de soldas de estanho e isolados entre si por 6.0mm de resina acrílica autopolimerizável (substância não condutora), totalizando 9.0mm de comprimento total. Os condutores dos anéis

tiveram seus contatos adaptados para a conexão do eletroestimulador não havendo a necessidade de calibração (figura 1).

Depois de produzidas, as sondas foram testadas quanto à passagem de corrente e intensidade da eletroestimulação através de uma pinça fina na pele (falanges distais dos dedos indicador e polegar) das pesquisadoras. Esse teste garantia o funcionamento adequado das sondas com ausência de indícios de sofrimento do animal a passagem da corrente.

Figura 1. Desenho esquemático da sonda para eletroestimulação **(A)** e fotografia da sonda adaptada ao eletroestimulador **(B)**. **Fonte:** Arquivo dos autores.



2.1.2. Contenção manual

As ratas foram contidas segundo o método manual para camundongos que permite uma respiração fácil e pequenos movimentos isométricos. Deste modo, a rata fica em decúbito dorsal sobre a palma de uma das mãos de uma pesquisadora, onde, ao mesmo tempo, traciona-se a pele da nuca, com uma preensão bidigital entre os dedos indicador e polegar. ⁽¹⁶⁾ Porém, o método foi adaptado às ratas pela dificuldade de contê-las devido ao tamanho significativamente superior aos camundongos. Assim, se encaixam os dedos

indicador e polegar por baixo das articulações gleno-umeral da rata através de uma preensão bidigital.

Após o posicionamento em decúbito dorsal das ratas, traciona-se, com uma das mãos, o rabo destas. Nesse momento outro pesquisador procede à introdução da sonda anal, devidamente lubrificada por gel condutor, sob a cauda da rata no local específico onde os músculos pélvicos e anorretais estão localizados (figura 2). Destaca-se que a sonda possui diâmetro e comprimento compatíveis com o canal anal de ratas Wistars.

Figura 2. Técnica de contenção de ratos. **Fonte:** Arquivo dos autores.



2.1.3. Eletroestimulação

Durante o estudo, as ratas foram eletroestimuladas, com o aparelho Dualpex 961 QUARK® modelo URO e a higienização das sondas se procedeu com água corrente, sabonete antisséptico e em seguida foram armazenadas em lugar seco.

As ratas foram submetidas a 30 sessões, uma vez que esse é o número de atendimentos prescritos em média para fortalecimento dos músculos do assoalho pélvico e anorretais em mulheres. ⁽¹⁷⁾

As sessões aconteceram 2 vezes ao dia, com duração de 6 minutos cada e 5 minutos de descanso entre elas, 5 vezes por semana durante 3 semanas consecutivas. ⁽¹⁶⁾

A corrente utilizada foi bifásica simétrica retangular com largura de pulso de 700- μ s, frequência de 50 Hz e uma intensidade de 2 mA, ou até causar contração visual. ^(16,17)

O tempo para passagem da corrente, consequentemente a contração muscular e o tempo de interrupção da corrente, por conseguinte o repouso muscular foi on/off de 5 e 10 segundos, respectivamente. ^(16,17)

Considerando os parâmetros da eletroestimulação padronizada nesse estudo e que estão em concordância com o método utilizado no estudo base, é altamente improvável que esta estimulação seja dolorosa, pois não se observam rangidos, enrijecimento da cauda ou movimentos no corpo. Mesmo assim, com intuito de minimizar o estresse gerado pelo procedimento de inserção de sonda do eletroestimulador, os pesquisadores familiarizaram-se com as ratas, para gerar condicionamento com a conduta de rotina do estudo. ⁽¹⁶⁾

2.2. Análise morfométrica:

2.2.1. Eutanásia das ratas e Obtenção do bloco pélvico

No primeiro dia após a última sessão de eletroestimulação, todas as ratas foram eutanasiadas por meio de câmara de CO₂. A concentração foi de 40%, resultando em morte, por depressão excessiva do sistema nervoso central e hipóxia, devido ao deslocamento do oxigênio durante a troca gasosa alveolar. O emprego do CO₂ como agente para eutanásia, possui vantagens como rápido efeito depressor e baixo custo, além de ausência de resíduos tóxicos nos tecidos.

Após a eutanásia, as ratas foram submetidas à dissecação para a remoção dos blocos pélvicos em que, especificamente, foram removidos os segmentos da pelve e períneo. O segmento reto-anal foi removido com tesoura curva, preservando-se a pele perianal, com intuito de não danificar nenhuma porção do músculo do esfíncter anal externo, e os músculos do assoalho pélvico foram mantidos com suas inserções no anel pélvico.

As carcaças foram devidamente acondicionadas conforme Resolução da Diretoria Colegiada, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA - RDC Nº 306, de 7 de dezembro de 2004, em saco branco leitoso, no freezer do biotério do UniCEUB. Em seguida, os gestores do Labocien, entraram em contato com a empresa Quebec Ambiental, que se responsabilizou pela coleta, transporte e incineração dos resíduos biológicos.

2.2.2. Exame histológico

Os espécimes removidos conforme descrito acima, foram fixados e diafanizados em xilol a 10% por 30 minutos (2 banhos) e impregnados em parafina a 60 graus (3 banhos) e, em seguida, emblocados em parafina. Posteriormente, os

blocos foram integralmente seccionados com 5 µm de espessura e para o estudo histopatológico, as secções histológicas foram coradas com Tricrômio de Gomori. As observações das secções histológicas foram realizadas por um técnico da Área de Morfologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, por meio de microscopia óptica com aumento topográfico por um único observador (200x, 400x e 1000x) e, posteriormente, fotografadas com o Microscópio (Axion Vision, Zeiss®), capturadas com o equipamento AperioScanScope® e avaliadas no programa ImageScope® version 11.2.0.780 (Aperio Technologies Inc, Vista, CA, USA).

2.2.3. Determinação do diâmetro das fibras musculares

Para a avaliação dos diâmetros das fibras musculares, foram selecionadas áreas representativas das diferentes regiões do músculo esquelético esfíncter anal externo, em secções transversais digitalizadas, para tomar as medidas dos diâmetros de 200 células.

O número de fibras musculares observadas foi aumentado para 200 fibras por lâmina, sendo 50 fibras por campo e 4 campos por lâmina, objetivando dar maior fidedignidade para o registro do diâmetro das fibras analisadas.

De acordo com a literatura, para a análise morfométrica da quantificação do diâmetro das fibras musculares não há um consenso quanto ao número ideal. Entretanto, há um direcionamento em registrar entre 100 e 200 fibras por lâmina, como foi realizado neste estudo. ^(18,19)

Para medir os diâmetros das fibras, foi utilizada a ferramenta de medida de comprimento em pixels do programa de edição de imagens GIMP® (versão 2.8.10). O aplicativo possui uma régua que passa pelo centro da fibra e fornece os

diâmetros em pixels. Para converter a medida em pixels para micrômetros (μm) foi utilizada a regra de três simples.

Em seguida, os diâmetros foram tabulados em planilha de Excel e convertidos para micrômetros (1 pixel = 1,14 μm). Para as fibras esqueléticas foram tomadas as medidas dos diâmetros maior e menor e, posteriormente, foram calculadas as médias dessas medidas.

2.3. Análise dos Dados

A normalidade das variáveis médias, medianas, desvios padrões, valores maior e menor, foi analisada empregando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias, empregando-se o teste de Bartlett.

Para comparações entre dois grupos com distribuição normal, foi usado o teste t para dados normais, diferenças de $p < 0,05$ foram consideradas significantes.

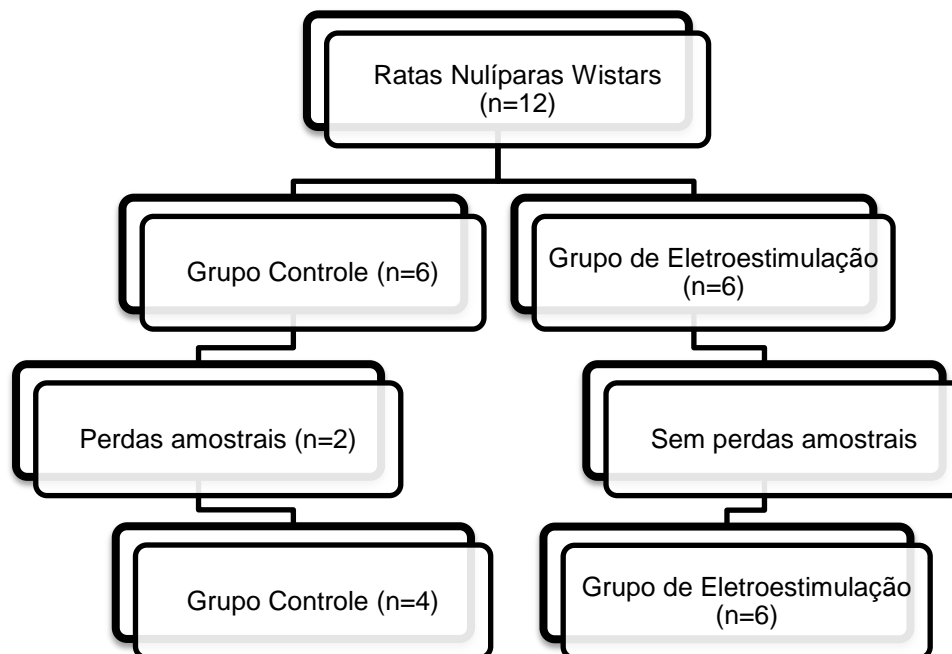
Os resultados qualitativos foram analisados pelo teste de Qui-quadrado para dados com distribuição normal e as análises foram realizadas empregando-se o programa Prism® 5 Software Package (GraphPad, USA, 2005).

3. RESULTADOS

A amostra foi composta por 12 ratas fêmeas da linhagem Wistar, com 12 meses de idade e nulíparas, divididas em Grupo Controle (n=6) e Grupo de Eletroestimulação (n=6).

Durante a realização do estudo, perderam-se 2 amostras dos espécimes removidos do Grupo Controle (figura 3). Tais perdas ocorreram durante a fase de fixação dos blocos do esfíncter anal externo em parafina, ou seja, durante uma fase de execução de técnicas histológicas. Atribui-se parte do fenômeno a falta de informações sobre técnicas histológicas existentes na literatura.

Figura 3. Fluxograma contendo amostra inicial, alocação dos grupos de estudo, perdas e amostra final.



Os resultados das análises morfométricas dos diâmetros das fibras musculares do EAE das ratas nulíparas, com valores representados em micrômetros, mostraram, no Grupo Controle, média (24,69 μm), mediana (24,97 μm), desvio padrão (0,78 μm), diâmetro maior (25,28 μm) e menor (23,53 μm) (tabela 1).

Nas ratas do Grupo de Eletroestimulação, obtiveram-se os valores de média (29,07 μm), mediana (29,00 μm), desvio padrão (1,2 μm), diâmetro maior (31,18 μm) e menor (27,70 μm) (tabela 1).

Na análise morfométrica destaca-se o aumento médio de 17,73% no diâmetro das fibras musculares das ratas eletroestimuladas quando comparadas ao Grupo Controle ($p = 0,0002$) (tabela 1).

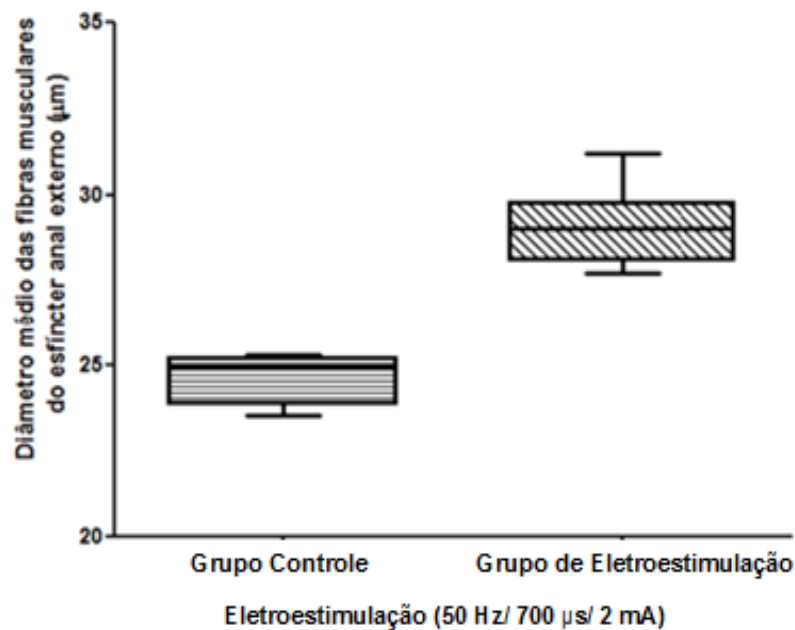
Tabela 1: Análise dos Grupos Controle e de Eletroestimulação.

Variável	Grupo	Média	Mediana	Desvio padrão	Maior	Menor	Dif %	<i>p valor</i>
Diâmetro (μm)	Controle	24,69	24,97	0,7869	25,28	23,53		
	EENM	29,07	29,00	1,206	31,18	27,70	17,73	0,0002*

* Valor estatisticamente significativo

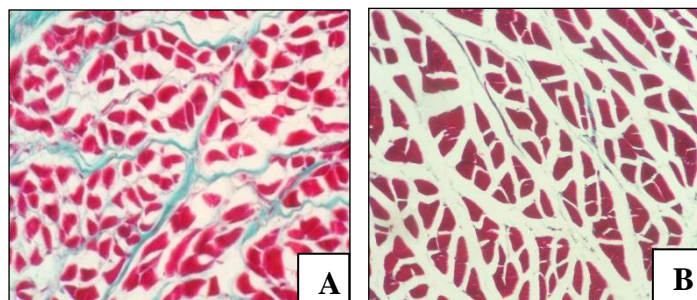
Após análise pelo teste t, observou-se que o Grupo de Eletroestimulação apresentou aumento do diâmetro médio das fibras musculares após comparação com o controle ($p < 0,05$) (gráfico 1).

Gráfico 1: Diâmetro médio das fibras musculares do EAE.



Nas fotomicrografias utilizadas na mensuração de diâmetro das fibras musculares do EAE, é possível identificar o aumento do diâmetro das fibras representadas pela coloração avermelhada e o tecido conjuntivo pela coloração azul-esverdeada (figura 4).

Figura 4. Fotomicrografias das fibras musculares esqueléticas do músculo esfíncter anal externo (EAE): Grupo Controle (A) e Grupo de Eletroestimulação (B). Coloração tricrômio de Gomori (400x).



4. DISCUSSÃO

O mecanismo de atuação da eletroestimulação é um fenômeno que ainda não está completamente elucidado, pois ainda há muitos questionamentos sobre a ação da corrente elétrica, dentre estes se a mesma fortalece as fibras musculares e/ou altera o seu diâmetro. ^(1,20)

Dois estudos analisados demonstram que a EENM além de causar uma hipertrofia, também modifica o padrão das fibras musculares. ^(13,14) Tal assertiva está de acordo com os resultados deste estudo, onde, nas ratas que foram submetidas a eletroestimulação, houve aumento no diâmetro das fibras musculares do EAE.

Hoje o uso de modelos animais está contribuindo para analisar sobre os mecanismos de afecções em humanos e também para o emprego de métodos terapêuticos. ⁽¹⁵⁾ Dessa forma, o presente estudo pôde contribuir para observar os mecanismos de ação da EENM no EAE quanto ao aumento do diâmetro das fibras musculares.

Foram realizadas 30 sessões de atendimento com EENM. Apesar de a variável força muscular não ter sido analisada neste estudo, buscou-se seguir a recomendação mínima encontrada na literatura para a manifestação de aumento da força muscular após aplicação da eletroestimulação. ^(21,22)

Diante disso, a análise morfométrica dos resultados obtidos evidenciou, com significância, um aumento expressivo no diâmetro das fibras musculares das ratas do Grupo de Eletroestimulação em relação ao Grupo Controle. Fato inédito na literatura, com resultado relevante, uma vez que a hipertrofia de um músculo fundamental, como o EAE, é importante para o processo de continência anal. ⁽⁴⁾

Em vista da constatação deste estudo, nota-se o benefício específico da EENM para manutenção normal do tônus muscular e possivelmente para o aumento da força de pressão de contração anal, pois há uma relação direta entre aumento do diâmetro médio das fibras e aumento da força muscular. ⁽²³⁾ Entretanto, não foram encontrados estudos sobre a ação da eletroestimulação no EAE e tal afirmação foi verificada para os músculos estriados esqueléticos: vasto lateral, flexores e extensores de joelho. ^(24,25) Assim, acredita-se que os resultados sejam semelhantes no EAE, uma vez que esse tem a mesma classificação histológica que o músculo do membro inferior, qual seja, músculo estriado esquelético.

Os parâmetros de EENM utilizados neste estudo, que correspondem a uma baixa frequência mostram melhores resultados terapêuticos, como aumento da força muscular e sensibilidade anorretal, conforme observado nos estudos de Bo, Talseth e Holme ⁽¹⁷⁾ e Gladman et al. ⁽²⁶⁾

Dentre as frequências definidas como baixas, foi selecionada para aplicação da EENM uma frequência de 50Hz. Esta frequência seria capaz de gerar um aumento na área transversal de cada fibra muscular, característica da hipertrofia, preferencialmente nas fibras do tipo II. Estas fibras são recrutadas em ações rápidas e de altas tensões, podendo promover a hipertrofia. ^(1, 27) Dessa forma, tal afirmação foi constatada no presente estudo pelo aumento do diâmetro das fibras musculares esqueléticas do EAE e também do tecido conjuntivo.

O presente estudo seguiu os parâmetros do estudo base de Wyndaele e Poortmans, ⁽¹⁶⁾ mediante duas alterações no protocolo. A primeira modificação foi na intensidade de 4 mA para 2 mA para que a corrente não causasse sofrimento ao animal. A segunda modificação foi a utilização da contenção manual sem

anestésicos, pois no estudo base os animais eram sedados para que houvesse a aplicação da corrente.

Essas modificações foram importantes para evitar a exposição do animal à toxicidade medicamentosa e a possibilidade de observação de sofrimento no animal durante a aplicação da EENM.

Enfatiza-se que por se tratarem, em certos aspectos, de resultados inéditos na literatura, torna-se escassa a possibilidade de comparação quantitativa dos resultados. Porém, quanto à análise qualitativa, os resultados deste estudo se assemelham aos resultados obtidos utilizando-se eletroestimulação neuromuscular por via vaginal ^(13,14).

O estudo de Camargo et al., ⁽¹³⁾ avaliou os efeitos da EENM dos músculos do assoalho pélvico de 40 ratas (*Rattus norvegicus albinus*) adultas nulíparas. Antes de cada sessão, as ratas foram anestesiadas e após 12 sessões de EENM endovaginal, houve aumento da espessura da camada muscular periuretral. Tal resultado relaciona-se com os obtidos neste estudo.

Outra pesquisa, com a finalidade de analisar os efeitos funcionais e histológicos da EENM intravaginal sobre os músculos do assoalho pélvico de 10 ratas Wistars sedadas, se aproxima dos achados do presente estudo, uma vez que a contração intrarretal em ratas foi maior no grupo eletroestimuladas que no grupo não eletroestimuladas. Porém, esse estudo não chegou a ser estatisticamente significativo possivelmente devido à baixa potência da corrente elétrica. ⁽¹⁶⁾

O estudo de Franco et al., ⁽¹⁴⁾ com o intuito de analisar os efeitos da EENM intravaginal dos músculos do assoalho pélvico na bexiga de 40 ratas (*Rattus norvegicus albinus*) adultas nulíparas, constatou que houve aumento na espessura

da camada muscular, número dos vasos sanguíneos e porcentagem de fibras musculares na bexiga de ratas eletroestimuladas em 12 sessões quando comparadas aos grupos controle, placebo e submetidas a 6 sessões, o que se assemelha com os achados deste estudo no que se refere ao aumento do diâmetro das fibras.

Analisando as perdas ocorridas no presente trabalho, acredita-se que essas não influenciaram os resultados a ponto de comprometer a observação do fenômeno estudado, qual seja, a quantificação do diâmetro das fibras. Isso foi possível mediante o ajuste estatístico através do aumento do número dos resultados analisados das amostras remanescentes. ^(18,19)

5. CONCLUSÃO

A eletroestimulação foi capaz de induzir o aumento do diâmetro médio das fibras musculares do EAE de ratas nulíparas Wistars, de forma estatisticamente significativa. Esses resultados acrescentam novas informações sobre a terapêutica da incontinência anal pela EENM.

Entretanto, reforça-se a necessidade de novos estudos com maior número amostral, maior tempo de sessões e também a reprodução dos modelos terapêuticos em humanos com disfunções anorretais, com o propósito de dar mais sustentabilidade aos achados científicos.

6. REFERÊNCIAS

1. Palma PCR. Urofisioterapia: Aplicações Clínicas das Técnicas Fisioterapêuticas nas Disfunções Miccionais e do Assoalho Pélvico. IN: Palma PCR, Portugal HSP. *Anatomia do Assoalho Pélvico*. Uchôa S, Lôbo PD. *Fisioterapia para Distúrbios da Defecação*. Scafuri AG, Riccetto C, Palma PCR, Silveira A. *Síndrome da Bexiga Dolorosa e Cistite Intersticial*. 1ª. ed. Campinas – SP: Personal Link Comunicações, 2009. P28-33; P424; P435.
2. Koelbl H, Nitti V, Baessler K, Salvatore S, Sultan A, Yamaguchi O. *Pathophysiology of urinary incontinence, fecal incontinence and pelvic organ prolapse*. IN: Abrams P, Cardozo L, Khoury S, Wein A. *Incontinence: International Consultation on Incontinence*. 4nd ed. Paris: Distributor Editions, 2009. P255–330.
3. Marlene M, Corton MD. Anatomy of Pelvic Floor Dysfunction. *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.* 2009; 36: P401–419.
4. Saad LHC, Coy CSR, Fagundes JJ, Ariyazono ML, Shoji N, Góes JRN. Quantificação da função esfinteriana pela medida da capacidade de sustentação da pressão de contração voluntária do canal anal. *Arq. Gastroenterol.* 2002; 39: P233-239.

5. Ferreira LL, Marino LHC, Cavenaghi S. Intervenção fisioterapêutica na incontinência fecal no idoso. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*. 2012; 37: P168-172.

6. Ditah I, Devaki P, Luma HN, Ditah C, Njei B, Jaiyeoba C et al. Prevalence, Trends, and Risk Factors for Fecal Incontinence in United States Adults, 2005- 2010. *Cli. Gas. Hep*. 2014; 12: P636- 643.

7. Healy CF, Brannigan AE, Connolly EM, O'Sullivan MJ, McNamara DA, Cusack C et al. The effects of low-frequency endo-anal electrical stimulation on faecal incontinence: a prospective study. *Int. J. Colorectal Dis*. 2006; 21: P802-806.

8. Hosker G, Norton C, Brazzelli M. Electrical stimulation for faecal incontinence in adults. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2000; 2: P1-13.

9. Lianza S. Estimulação Elétrica Funcional: FES e reabilitação. IN: Lianza S. *Desenvolvimento da Eletroterapia*. Lianza S. *Bases da Estimulação Neuromuscular*. 2^a. ed. São Paulo – SP: Editora Atheneu, 2003. P1; P1-11.

10. Wyman JF. Treatment of urinary incontinence in men e older women: the evidence shows the efficacy of techniques. *Am. J. Nurs*. 2003; 103: P26-35.

11. Bo K. Effect of electrical stimulation on stress and urge urinary incontinence. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* 1998; 168: P3-11.

12. Amaro JL, Gameiro MOO, Padovani CR. Treatment of urinary stress incontinence by intravaginal electrical stimulation and pelvic floor physiotherapy. *Int. Urogynecol. J.* 2003; 14: P204-8.

13. Camargo ALM, Salerno GRF, Gomes RCT, Simões RS, Castro RA, Girão MJBC. Aspectos morfológicos da uretra de ratas após eletroestimulação do assoalho pélvico. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2013; 35: P159-63.

14. Franco GR, Oliveira Ed, Baracat EC, Simões MJ, Sartoria MG, Girão MJ et al. Histomorphometric analysis of a rat bladder after electrical stimulation. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2011; 57: P20-4.

15. Sengupta P. A scientific review of age determination for a laboratory rat: how old is it in comparison with human age? *Biomedicine International.* 2011; 2: P81-89.

16. Wyndaele JJJ, Poortmans A. Functional and histological effects of intravaginal electrical stimulation on the pelvic muscles: a study in the rat. *Int. Urogynecol. J.* 2006; 17: P444–448.

17. Bo K, Talseth T, Holme I. Single blind, randomized controlled trial of pelvic floor exercises, electrical stimulation, vaginal cones, and no treatment in management of genuine stress incontinence in women. *B. M. J.* 1999; 318: 487–493.

18. Dubowitz V. Histological and histochemical stains and reactions. Muscle biopsy: a modern approach. *London: Saunders.* 1973; 2: P16-28.

19. Brito MKM, Filho JCSC, Vanderlei LCM, Tarumoto MH, Pai VD, Giacometti JA. Dimensões geométricas das fibras do músculo sóleo de ratos exercitados em esteira rolante: a importância da análise por meio de imagens digitalizadas. *Rev. Bras. Med. Esporte.* 2006; 12: P1- 5.

20. Bump RC, Mattiasson A, Bo K, Brubaker I, De Lancey J, Klartskov P et al. Functional and histological effects of intravaginal electrical stimulation on the pelvic muscles: a study in the rat. *Int. Urogynecol. J.* 2006; 17: P444-8.

21. Knight S, LaycockJ, Naylor D. Evaluation of neuromuscular electrical stimulation in the treatment of genuine stress incontinence. *Physiotherapy.* 1998; 84: P61-7.

22. Sand PK, Richardson DA, Staskin DR, Swift SE, Appell RA, Whitmore KE et al. Pelvic floor electrical stimulation in the treatment of genuine stress incontinence: a multicenter, placebo-controlled trial. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1995; 173: P72-79.

23. Bucci M, Vinagre EC, Campos GER, Curi R, Pithon-Curi TC. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. *R. Bras. Ci.e Mov.*2005;13: P17-28.
24. Lexell J, Taylor C, Sjostrom M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studies in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J. Neurol. Sci.* 1988; 84: P275-294.
25. Frontera WR, Hughes VA, Lutz KJ, Evans WJ. A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45-to 78-yr-old men and women. *J. App. Physiol.* 1991; 71: P644-650.
26. Gladman MA, Scott SM, Chan CL, Williams NS, Iunniss PJ. Rectal hyposensitivity: prevalence and clinical impact in patients with intractable constipation and fecal incontinence. *Dis. Colon. Rectum.* 2003; 46: P238-46.
27. Abdalla DR, Bertencello D, Carvalho LC. Avaliação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas imobilizado e submetido à corrente russa. *Fisioter. Pesq.* 2009; 16: P59-64.